自由基與抗氧化酵素

羅惠齡、劉新裕
行政院農業委員會農業試驗所

一、前言

近年來自由基對細胞的傷害已被醫學界認定[7]，顯示自由基與人類許多疾病的發展有關，包括人體老化、心血管疾病或癌症等[27]。生物體內若受到新陳代謝影響會產生自由基(free radical)，自由基是人體代謝產物之一，本身是一種不成對的電子，處於一種不穩定的狀態，這些自 由基在人體內會攻擊細胞的蛋白質 、核酸和脂質等，造成細胞組織的損傷[13]。氧爲大多數生物所必須，細胞內多種氧化反應及新陳代謝途徑會產生活性氧等自由基，活性氧與自由基的形成可能經由生物性或環境性過程而產生，並引起連鎖反應而形成更多的自由基。環境中自由基的主要來源包括化學物質、離子輻射、空氣污染、抽菸等。生物體內的自由基是在細胞進行代謝時的氧化還原反應所產生，例如在電子轉移過程中，會產生超氧陰離子、氫氧自由基與過氧化氫等中間物；或是有外來物入侵時，產生超氧陰離子以抵抗外來物所引起的干擾[14]。因此自由基在人體中提供了調節細胞間訊息和細胞生長等多種生物功能，但是當自由基的生成超過細胞內抗氧化機制的防禦能力時，就會造成氧化壓力(oxidative stress)[13]。氧化壓力是指抗氧化系統與氧化傷害無法達到平衡，而對生物體造成傷害的現象，最後可能會引起DNA、蛋白質與脂質的氧化傷害[21]。

二、自由基與活性氧之簡介

20世紀初期Gomberg等人證明了三苯甲基自由基 (Triphenylmethyl radical, $Ph_3C\cdot$)的存在後，自由基就開始成爲生物醫學領域重要研究方向。1954年 Harman 認爲細胞代謝過程中自 由基是必然產生的毒素，此時生物體內若無類似抗氧化物質的防衛系統，自由基便會隨意攻擊體內 細胞組織，引發身體的各種病變。所謂自由基是含有一個或多個不成對電子的原子或分子，種類很 多且大部分爲瞬間產生，也就是半衰期很短，但對人體會產生重大影響者，有下列幾類：

(一)超氧陰離子自由基(superoxide anion radical, $O_2^-\cdot$)：

超氧陰離子自由基是最先也是最常產生的自由基，但其半衰期極短，因其作用後的連鎖反應產生二級或三級產物會對生物體造成傷害。

(二)過氧化氫 (Hydrogen peroxide, H_2O_2)

過氧化氫可經由SOD 歧化超氧陰離子自由基而來，對細胞的傷害性較其他種類自 由基爲大，因爲過氧化氫可進入細胞膜與體內亞鐵離子或銅離子產生反應，而產生破壞性極大的氫氧自由基及次氯酸，而氫氧自由基又會在生物體內造成更多的氧化傷害。

(三)氫氧自由基 (Hydroxyl radical, $OH\cdot$)

氫氧自由基是自由基中最活躍者，其來源可由H_2O_2在金屬離子如鐵離子、銅離子的催化下進行所生成。主要造成體內脂質過氧化進而傷害細胞，亦可與任何生物體內物質反應，包括醣類、蛋白質、磷脂質 、核醣體等。

(四)脂質過氧化物 (Lipid peroxide, $ROO\cdot$)

脂質過氧化的連鎖增殖步驟產生過氧化脂質，過氧化脂質可以說是許多自由基反應後的產物，在自由基連鎖反應中被研究最久。過氧化脂質可因自斷裂成其他自由基形成有害的酮類、或其他產物，也可能被代謝掉，因細胞膜上多元不飽和脂肪酸易遭脂質過氧化產物破壞，造成醛類細胞膜的功能受損。

(五)單線態氧 (Singlet oxygen, $^1O_2$)

單線態氧不具有未配對電子，但其可成爲一強而有力的氧化分子， 因單線態氧極易與高不飽合脂肪酸的分子結合，造成自由基的產生與脂質氧化。單線態氧可經由光過敏反應而產生或經由臭氧與其他分子反應而生成。

三、生物抗氧化機制

過多活性氧能引起生物膜中不飽和脂肪酸被氧化形成過氧化脂肪，進而引起細胞內膜系通透性改變、細胞內容物流失、快速脫水以致死亡[24]。因此抑制或消除自由基的產生，就可進一步控制或改善與自由基有關之人體疾病[12]。不同種類的氧化過程需要不同抗氧化物質來保護，抗氧化物質可定義爲可明顯延緩容易被氧化的物質之氧化，或避免其他氧化物質被氧化。一般生物抗氧化機制包括酵素及非酵素兩大類[22]， 非酵素抗氧化物如：類黃酮 (flavonoids)、多元酚(polyphenols)、單寧(tannin)、麩胱甘肽(glutathione)、抗壞血酸(ascorbate)、α－生育醇(α－tocopherol)、生物鹼(alkaloids)、葉綠素(chlorophyll)、氨基酸 (amino acid)、類胡蘿蔔素(carotenoids)、多醣體(polysaccharides)及礦物元素(minerals)等；酵素系統如超氧歧化酶(superoxide dismutase)、觸酶 (catalase)、穀胱甘肽還原(glutathione reductase)、過氧化酶(peroxidase)等，可有效消活性氧的活性，使之還原成安定之物質如H_2O 等。近年來有關食物中抗氧化酵素活性之研究漸受重視，抗氧化酵素能迅速中斷脂質過氧化連鎖反應，分解並消除已形成的過氧化物及自由基等有害物質，如果能清除過氧化物及自由基等有害物質，或抑制會導致氧活性化物質的形成，將可使人類的健康壽命更加延長[6]。

四、抗氧化酵素之介紹

(一)超氧歧化酶 (Superoxide dismutase,SOD)

1938年自牛紅血球分離出一種含銅藍綠色的蛋白質，定名爲血銅蛋白，1969年發現紅血球蛋白質能催化去除超氧陰離子，根據其酵素特性而命名爲超氧歧化酶。SOD 廣泛存在一切需氧的生物體內，可將超氧自由基轉變爲過氧化氫，以減少超氧自由基所造成的傷害。

$$2O_2^-\cdot + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

超氧歧化酶依其所含金屬離子的不同可分成三類，分別是Cu/ZnSOD、MnSOD、FeSOD。Cu/ZnSOD主要存在於真核生物之細胞質內，MnSOD存在於原核生物及粒線體內；人體內僅有Cu/ZnSOD和MnSOD。FeSOD存在於原核生物中，只有一些低等動植物和某些微生物中才有。超氧歧化酉每可專一性的清除超氧自由基，對細胞有著有效的防禦作用[13]。潘和葉學者利用 225 種食用藥用菇類菌絲體爲材料，進行SOD活性測定與鑑定。結果發現這批食用藥用菇類菌絲體所含之SOD以MnSOD爲主，活性最高者達310 U/mg d. w.，而多數菌絲體SOD活性爲50-100 U/mg d. w.，因此學者認爲SOD活性高之食用藥用菇可作爲機能性食物之用。吳等人利用啤酒發酵母爲材料進行SOD提取與純化，所得SOD活性高達3048 μ/mg [12]。

(二)觸酶(Catalase,CAT)

一般存在於植物體及好氧性微生物中，對H_2O_2及有機氫氧化物表現過氧化酵素的特性，觸酶可將過氧化氫轉變成水，而減少H_2O_2對細胞的傷害。

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow{Catalase} 2H_2O + O_2$$

(三)穀胱甘肽還原酶(Glutathione reductase,GR)

含有兩個蛋白質次單元，而每個次單元的活性部位皆含有(FAD)，藉NADPH使GSSG還原，再與蛋白質內雙硫鍵位置反應生成兩個-SH[11]。

$GSSG+NADPH+H^+ \rightarrow 2GSH+NADP+$

(四)穀胱甘肽過氧化酶(Glutathione peroxidase, GSHP)

穀胱甘肽過氧化酶主要存在細胞質與粒線體中，可將H_2O_2轉換爲水而減少對細胞的傷害，GSH因作用而氧化成GSSG，此時GR會再將GSSG還原成GSH，使其可再維持抗氧化的角色。

$$2GSH+H_2O_2 \xrightarrow{GSH+Px} GSSG+2H_2O$$

危和顏二位學者進行食品中穀胱甘肽含量的測定，水果中以芒果GSH含量255.9 n mole/g較高，除美濃瓜以外，屬於多子的果實其GSH含量有特別高的現象。六種穀類中GSH含量低，而小麥胚芽中GSH含量相當高，是所分析樣品中含量最高的[10]。學者認爲大部分的水果與綠色蔬菜都含有豐富的GSH含量，多攝GSH取有益於人體的抗癌及去毒作用。宰等人利用槲寄生爲材料，測定葉、莖、果中抗氧化酵素活性。結果顯示槲寄生葉、莖富含SOD，每克鮮重均超過320單位；CAT與GSH-Px在葉中活性非常強，因此槲寄生所含抗氧化活性物質種類多，數量大， 具很強抗氧化能力，尤以葉爲最[8]。

(五)過氧化酶(Peroxidase, PO)

過氧化酶爲含鐵之蛋白質，參與氧化還原等催化反應，電子接受者爲H_2O_2，電子供應者爲許多物質的基本成分。晏等人利用草莓爲材料測定可溶性PO含量變化百分比，試驗結果發現無論是玻璃態(-75℃)保存還是橡膠態(-25℃)保存，草莓中POD的活性變化趨勢大致相同，儲藏期間PO一直呈下降趨勢，在玻璃態(-75℃)保存草莓中PO的活性保持高度穩定，因此食物處於玻璃態保存時，酶活性能得到很好的保存[9]。

五、山藥之抗氧化酵素

劉等人以山藥爲材料，針對經過篩選之15個山藥品種系植株塊莖內抗氧化酵素活性進行測定，所得結果可供選育具抗氧化潛力之山藥優良品種系，及供進一步加工與醫藥利用之參考。 山藥原名薯蕷，俗名淮山，爲薯蕷科(Dioscoreaceae)薯蕷屬 (Dioscorea)多年生蔓性根莖類植物，分佈遍及熱帶、亞熱帶及其他地區[12,13]。薯蕷屬植物全世界超過600種，分布於本省的有15種及4種變種，物種十分繁雜，品系眾多，形態變異之差異極大[5]。山藥全株利用部位爲塊莖 (又稱擔根體)，營養成分除醣類外，亦含豐富蛋白質、礦物質及維生素，有滋養強壯、健脾胃、益腎氣、止泄痢及增強免疫之功效，民間亦用來治療糖尿病患，具有降血糖之效果。又其含有特殊水溶性黏質物， 具有幫助消化、美容等功效[1]。山藥高產且富含營養價值，是食用或藥食兼用且可當保健食品來利用的材料。山藥經證實確具提升抗氧化酵素活性、增強免疫之能力，爲極具推廣價值之特用作物[2]。70W35(汕三品系)有PO、SOD及CAT等三種抗氧化酵素含較高活性，TNG2(台二品系)有PO、SOD及GR等含較高活性，70W3 4(汕二品系)有PO及SOD等二種抗氧化酵素含較高活性，70W47 (二刺品系)有SOD及CAT等二種抗氧化酵素含較高活性，70W73(F155品系)有SOD及GR等二種抗氧化酵素含較高活性，以上這五種山藥品種系含有較高抗氧化酵素活性，值得進一步推廣栽培與利用[17]Asemota等人切去山藥塊莖頂端後，置室溫儲藏，發現過氧化酶與鄰位二酚酶活性及酚類化合物於第三週後達最高峰而後又逐漸下降。Ikediobi及Oti發現山藥塊莖受傷後，脂氧合酶、過氧化酶及多酚氧化酶活性於短期儲存一星期，均先增加而後下降。 朱等人測定山藥塊莖採收後於室溫儲藏8週期間過氧化酶活性變

化。結果發現PO活性逐漸上升而後下降，因此學者認為此酵素活性之增加，可能與採收受傷之傷口癒合有關[5]。

六、結語

自由基是需氧生物中多種生化反應的中間代謝產物，也是生物體有效防禦系統，但當其產生過多或清除過慢時，這些未成對電子的自由基其化學性質相當活潑，便會攻擊生物體，造成細胞組織的損傷。而生物體內有一些抗氧化防禦系統，主要包括非酵素性的抗氧化物質及酵素性的抗氧化酵素[7]。因此找尋具有抗氧化活性的天然食物，以作為調整機體之抗氧化防禦能力是有必要的。近年來，人們健康意識抬頭，除了要吃的飽、吃的好，還要吃的健康長壽，因此在日常膳食中要多攝取抗氧化物，以增強體內抗氧化防禦系統。

七、參考文獻

1. 王俐婷、宋賢一、張珍田。1999。基隆山藥塊莖多酚氧化酵素之純化及性質研究。中國農業化學會誌 37(1)：141-151。
2. 王俐婷、張珍田、宋賢一。1999。基隆山藥塊莖多酚氧化酵素之動力學機制研究。中國農業化學會誌 37(4)：455-461。
3. 石正中。1999。抗壞血酸處理對楊桃多酚氧化酵素活性之影響。宜蘭技術學報3：43-47。
4. 危貴金、顏國欽。1995。食品中麩胱甘肽含量的測定。中國農業化學會誌 33：355-362。
5. 朱汎琪、王俐婷、宋賢一、張珍田。1998。基隆山藥塊莖採收後之生化學研究。中國農業化學會誌 36：547-554。
6. 吳思方、方尚玲、童振球。2000。啤酒發酵母提取SOD研究。食品科學 21：22-25。
7. 施益民、呂鋒洲。1987。自由基與各種疾病。當代醫學 16：399-407。
8. 宰學明、吳國榮、龔祝南、陸長梅、邵志廣。2001。槲寄生抗氧化物質的研究測定。中草藥 32：1081-1083。
9. 晏邵慶、華澤釗、劉寶林。2000。玻璃化保存草莓多酚氧酶和過氧化物酶活性變化的實驗研究。食品科學 21：58-62。
10. 陳如茵。2000。食品之氧化控制及抗氧化成份。食品工業月刊 32：43-50。
11. 黃進發。2000。天然抗氧化物—麩胱肽太之生理機能。食品工業月刊 32：39-46。
12. 黃進發。2000。食藥用菇的抗氧化SOD之研發與利用。食品工業月刊 33：43-5。
13. 廖巧敏。2002。自由基與超氧歧化酵素。食品工業月刊 34：51-58。
14. 趙文婉、張珍田、周淑姿。2002。淺談植物類化學物質對抗自由基之機制。食品工業月刊 34(2)：49-59。
15. 劉增堂、黃瑞泉。1978。Dioscoreaceae 薯蕷科，Flora of Taiwan pp.100-109。台灣植物誌編輯委員會。台北市。
16. 劉新裕、張同吳、林義恭、陳淑芬、王昭月、朱戩良、王順成。1999。山藥之品種特性、生產潛力、物化性質與抗氧化研究。中華農業研究 48：1-22。
17. 劉新裕、賴瑞聲、林義恭、陳淑芬、羅惠齡、王昭月、高瑞隆。2001。山藥之、生產潛力與抗氧化酵素活性之比較。中華農業研究 50：40-57。
18. 潘建國、鄧兆活。1999。蜂花粉中過氧化氫酶活性測定新法的探討。食品科學 4：48-50。
19. 潘素美、葉志新。1997。臺灣食用藥用菇超氧歧化酶含量之比較。中華農業化學會誌 35：209-219。

20.Asemota, H. N., M. A. Wellington, A. A. Odutuga and M. H. Ahmad. 1992. Effect of short-term storage on phenolic content, o-diphenolase and peroxidase activities of cut yam tuber (Dioscorea sp.). J. Sci. Food Agr. 60:309-312.

21.Aruoma, O. I. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. J. Am. Oil Chem. Soc. 75:199-212.

22.Burdon, R. H. and Rich-Evans, C. 1989. Free radicals and the regulation of mammalian cell proliferation. Free Rad. Res. Commun. 6:345-358.22.

23.Dzlezak, J. D. 1986. Antioxidant : the ultimate answer to oxidation. Food Technol. 50:73-81.

24.Harman, D. 1991. The aging process: major risk factor for disease and death. Proc.Natl. Acad. Sci. 889: 5360-5663.

25.Kanner, J., J. B. German and J. E. Kinsella 1987. Initiation of lipid peroxidation in bilological systems. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 25:317-364.

26.Misra, H. P. 1974. Generation of superoxide free radical during the autoxidation of thiols. J. Biol. Chem. 249: 2151-2155.

27.Rusting, R. L. 1992. Trends in biology. Why do we age? Sci. Am. 267: 131-141.

28.Wierzbick, G. T., T. M. Hangen and D. P. Jones. Glutathione in food. J. Food Comp. and Anal. 2:327-337.